

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

# [12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 99124126.6

[51] Int. Cl<sup>7</sup>

C07K 14/435

C07K 16/18 C07H 21/00

C12N 15/10 C12N 15/12

C12N 15/63 C12N 15/64

C12P 21/00 G01N 33/68

C12Q 1/68 A61K 38/17

A61K 31/7088 A61K 39/395

[11] 公开号 CN 1297918A

[43] 公开日 2001 年 6 月 6 日

[22] 申请日 1999.11.26 [21] 申请号 99124126.6

[71] 申请人 上海博容基因开发有限公司

地址 200092 上海市中山北二路 1111 号 3 号楼 12 层

[72] 发明人 毛裕民 谢毅 秦义龙  
申晓东 林盛荫

权利要求书 2 页 说明书 24 页 附图页数 1 页

[54] 发明名称 一种新的多肽——人转录终止因子结合蛋白 54 和编码这种多肽的多核苷酸

[57] 摘要

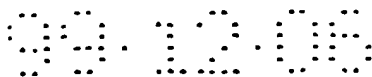
本发明公开了一种新的多肽——人转录终止因子结合蛋白 54, 编码此多肽的多核苷酸和经 DNA 重组技术产生这种多肽的方法。本发明还公开了此多肽用于治疗多种疾病的方法, 如恶性肿瘤, 血液病, HIV 感染和免疫性疾病的各类炎症等。本发明还公开了抗此多肽的拮抗剂及其治疗作用。本发明还公开了编码这种新的人转录终止因子结合蛋白 54 的多核苷酸的用途。

ISSN 1008-4274

知识产权出版社出版

# 权利要求书

- 1、一种分离的多肽-人 Rho 结合蛋白 54, 其特征在于它包含有: SEQ ID NO: 2 所示的氨基酸序列的多肽、或其多肽的活性片段、类似物或衍生物。
- 2、如权利要求 1 所述的多肽, 其特征在于所述多肽、类似物或衍生物的氨基酸
- 5 序列具有与 SEQ ID NO: 2 所示的氨基酸序列至少 95% 的相同性。
- 3、如权利要求 2 所述的多肽, 其特征在于它包含具有 SEQ ID NO: 2 所示的氨基酸序列的多肽。
- 4、一种分离的多核苷酸, 其特征在于所述多核苷酸包含选自下组中的一种:
  - (a) 编码具有 SEQ ID NO: 2 所示氨基酸序列的多肽或其片段、类似物、衍生物的多核苷酸;
  - 10 (b) 与多核苷酸 (a) 互补的多核苷酸; 或
  - (c) 与 (a) 或 (b) 有至少 70% 相同性的多核苷酸。
- 5、如权利要求 4 所述的多核苷酸, 其特征在于所述多核苷酸包含编码具有 SEQ ID NO: 2 所示氨基酸序列的多核苷酸。
- 15 6、如权利要求 4 所述的多核苷酸, 其特征在于所述多核苷酸的序列包含有 SEQ ID NO: 1 中 2-1468 位的序列或 SEQ ID NO: 1 中 1-2689 位的序列。
- 7、一种含有外源多核苷酸的重组载体, 其特征在于它是由权利要求 4-6 中的任一权利要求所述多核苷酸与质粒、病毒或运载体表达载体构建而成的重组载体。
- 8、一种含有外源多核苷酸的遗传工程化宿主细胞, 其特征在于它是选自于下列
- 20 一种宿主细胞:
  - (a) 用权利要求 7 所述的重组载体转化或转导的宿主细胞; 或
  - (b) 用权利要求 4-6 中的任一权利要求所述多核苷酸转化或转导的宿主细胞。
- 9、一种具有人 Rho 结合蛋白 54 活性的多肽的制备方法, 其特征在于所述方法包括:
  - 25 (a) 在表达人 Rho 结合蛋白 54 条件下, 培养权利要求 8 所述的工程化宿主细胞;
  - (b) 从培养物中分离出具有人 Rho 结合蛋白 54 活性的多肽。
- 10、一种能与多肽结合的抗体, 其特征在于所述抗体是能与人 Rho 结合蛋白 54 特异性结合的抗体。
- 30 11、一类模拟或调节多肽活性或表达的化合物, 其特征在于它们是模拟、促进、拮抗或抑制人 Rho 结合蛋白 54 的活性的化合物。
- 12、如权利要求 11 所述的化合物, 其特征在于它是 SEQ ID NO: 1 所示的多核苷酸。



酸序列或其片段的反义序列。

13、一种权利要求 11 所述化合物的应用，其特征在于所述化合物用于调节人 Rho 结合蛋白 54 在体内、体外活性的方法。

5 14、一种检测与权利要求 1-3 中的任一权利要求所述多肽相关的疾病或疾病易感性的方法，其特征在于其包括检测所述多肽的表达量，或者检测所述多肽的活性，或者检测多核苷酸中引起所述多肽表达量或活性异常的核苷酸变异。

15、如权利要求 1-3 中的任一权利要求所述多肽的应用，其特征在于它应用于筛选人 Rho 结合蛋白 54 的模拟物、激动剂，拮抗剂或抑制剂；或者用于肽指纹图谱鉴定。

10 16、如权利要求 4-6 中的任一权利要求所述的核酸分子的应用，其特征在于它作为引物用于核酸扩增反应，或者作为探针用于杂交反应，或者用于制造基因芯片或微阵列。

17、如权利要求 1-6 及 11 中的任一权利要求所述的多肽、多核苷酸或化合物的应用，其特征在于用所述多肽、多核苷酸或其模拟物、激动剂、拮抗剂或抑制剂

15 以安全有效剂量与药学上可接受的载体组成作为诊断或治疗与人 Rho 结合蛋白 54 异常相关的疾病的药物组合物。

18、权利要求 1-6 及 11 中的任一权利要求所述的多肽、多核苷酸或化合物的应用，其特征在于用所述多肽、多核苷酸或化合物制备用于治疗如恶性肿瘤，血液病，HIV 感染和免疫性疾病和各类炎症的药物。

20

## 说明书

### 人 Ras 相关 GTP 结合蛋白激酶

本发明涉及一种新的多核苷酸，由该多核苷酸编码的多肽，这些多核苷酸和多肽的应用，以及所述多核苷酸和所述多肽的生产。更具体地说，本发明的多肽被推断鉴定为人 Ras 相关 GTP 结合蛋白激酶。

癌基因 ras 为超基因家族，依据序列的同源性，Ras 原癌基因家族可进一步划分为 ras, rho, rab, 和 arf 等四个亚基因家族。Rho 亚基因家族由 Rho A、Rho B、Rho C、rac、TC10 和 CDC42Hs(也称为 G25K) 等蛋白质组成。研究显示 Rho 蛋白具有结合和水解 GTP 的作用，是“受体-G 蛋白偶联”信号传导途径中 GTP 酶家族的一个重要组成部分，在细胞许多基本功能的维持方面，如细胞周期过程，细胞的增殖、分化，细胞骨架形成，细胞的能动性，细胞内蛋白的转运及分泌等具有极为重要的作用。Rho 蛋白通过 GTP 酶催化 GTP/GDP 结合状态的不断转换来实现生物活性的活化与失活。许多蛋白质，如核苷酸交换蛋白(Nucleotide exchange proteins)、GTP 酶活化蛋白(GTPase-activating proteins, GAPs)、鸟嘌呤核苷酸降解抑制剂(Guanine nucleotide dissociation inhibitors) 可调节 Rho 蛋白的生物活性。然而人们对 Rho 蛋白的下游效应蛋白了解甚少，最近 Narumiya, S. 通过酵母双杂交系统分析，确定了一个丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(Ser/Thr protein kinase, PNK)、一个丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶相关蛋白(PNK-

related protein, Rhophilin )和一个带螺旋的 180-kDa 的蛋白质(180-kDa coiled coil-containing protein)为 Rho 蛋白质的下游候选效应蛋白。它们的蛋白质序列分析显示, 这些蛋白质的 N-端均含有共同的 Rho 蛋白结合序列, 因而这些序列被认为是 Rho 蛋白下游候选效应蛋白的保守序列, 以此序列为模板, 我们分别设计出特异的引物, 用 PCR 法成功地克隆了一个含 Rho 下游效应蛋白保守序列的新基因近全长 cDNA, 从而完成了本发明。

因此, 本发明的一个目的是提供一种新的多核苷酸, 该多核苷酸编码人 Ras 相关 GTP 结合蛋白激酶, 命名为 HUMRH(GenBank Accession No. AF049227)。

本发明的另一个目的是提供一种新的人 Ras 相关 GTP 结合蛋白激酶。

本发明的再一个目的是提供一种利用重组技术生产所述的新的的人 Ras 相关 GTP 结合蛋白激酶的方法。

本发明还涉及这种多肽的各种应用。

本发明涉及一种新的多核苷酸, 由该多核苷酸编码的多肽, 以及利用所述多核苷酸生产所述多肽的方法。更具体地说, 本发明的多肽被推断鉴定为是人 Ras 相关 GTP 结合蛋白激酶。编码本发明的多核苷酸可以是 RNA 形式和 DNA 形式, DNA 包括 cDNA、基因组 DNA 和合成 DNA, DNA 可以是双链或单链, 如果是单链, 可以是编码链或非编码链。

在本发明中, 术语“分离的”是指物质从其原始环境中分离出来

(如果是天然物质,原始环境即是天然环境)。如活体细胞内天然状态下的多核苷酸和多肽是没有分离的,但同样的多核苷酸或多肽如从天然状态中同存的其他物质中分开,则为分离的。

在本发明的一个实施方案中,本发明的从人肾组织 cDNA 文库中扩增出一条 392bp 大小的目标 cDNA 片段,并以此片段为探针筛选人肾 cDNA 文库,结果成功地克隆了一个含 Rho 下游效应蛋白保守序列的新基因近全长 cDNA,该基因与鼠 Rho 下游效应蛋白基因 Rhotekine 具有高度同源。将其输入国际 GenBank 数据库,获登录号 AF049227。

依据 Rho 蛋白下游效应蛋白基因的保守序列,设计出特异的引物,应用 PCR 方法从人肾 cDNA 文库中分离到一个长度为 230bp 的目标 cDNA 片段,经测序证实为预期序列之后,用其在相应的肾 cDNA 文库步移筛选,所得阳性克隆,经特异引物与载体臂引物搭配扩增证实这是一个长度近 2.1 kb 的 cDNA 克隆,进一步用其构建系列缺失克隆并进行序列测定,确认其全长序列为 2170bp,内含一个可编码 544 个氨基酸残基的完整开放读框 (ORF)。

将 2170bp 的近全长 cDNA 序列输入 GenBank 进行同源比较,结果全序列与鼠 Rhotekine 基因 (GenBank No.为: MMU54638) 的同源度达 87%。蛋白质的同源度为 80%。在 N-端有着相同的 Rho 结合域,因此我们推定它就是鼠 Rhotekin 在人类的同源基因。对鼠 Rhotekin 基因表达的蛋白质功能研究显示, Rhotekin 基因表达的蛋白是细胞信号传导途径上的重要负反馈调节因子,该蛋白可同 GTP 结合状态的 Rho 相结合,具有抑制 Rho 蛋白对 GTP 的水解作用,从而抑制细胞的信号传导途径。该基因的突变将导致许多细胞基本功能的改变。

在本发明的一个实施方案中，本发明的多核苷酸全长为 2170 个核苷酸，其详细序列见 SEQ ID NO: 1，其中开放读框位于 151-1785 位核苷酸。

根据本发明的另一方面，本发明的多核苷酸序列可用来表达或生产重组的 HUMRH 蛋白或多肽。一般来说有以下步骤：用本发明的编码 HUMRH 的 DNA 片段（或变异体）或含有该 DNA 片段的重组表达载体转化合适的宿主细胞；在合适的培养基中培养的宿主细胞；从培养基或细胞中分离、纯化蛋白质。

本发明还涉及含有本发明的多核苷酸序列的表达载体及用所述的表达载体遗传工程化的宿主细胞。表达载体的一个重要特征是含有适当的启动子和翻译控制元件。多种表达载体可从商业途径得到。常用的载体包括（但不限于）质粒，噬菌体，粘粒，酵母表达载体，病毒，Ti 质粒等，但最常用的载体首选质粒。常用的宿主细胞包括（但不限于）细菌，酵母，昆虫细胞，动物细胞或植物细胞等，但最常用的宿主细胞为细菌，尤其是大肠杆菌。另一个较常用的表达系统是哺乳动物细胞系，如 Hela，COS 细胞系或 CHO 细胞系等。

可用本领域中熟练人员已知的方法构建含 HUMRH 编码序列的重组表达载体。这些方法包括体外重组 DNA 技术，DNA 合成技术，体内重组技术等（J Sambrook 等 1989，分子克隆实验手册）。

以下将通过实施例对本发明进行进一步的描述，但实施例仅是举例性的，并非对本发明的限制。

## 实施例 1 HUMRH 的 cDNA 的克隆和测序

### 1. 引物扩增

以人肾脏  $\lambda$  gt10cDNA 文库（购自 Clontech 公司）为模板，用寡

核苷酸 5' -CCTGCTCGCCTGCCTCAGTGGCC-3' 为正向引物, 寡核苷酸 5' -GTTCTTCAGTGCCATCCTCAAAG-3' 为反向引物, 进行 PCR, PCR 条件为 93°C 3 分钟, 随之以 93°C 1 分钟、68°C 1 分钟和 72°C 1 分 30 秒进行 35 个循环, 最后 72°C 延伸 5 分钟。电泳检测得到的 506bp 目的片段。

## 2. 探针及其标记

以上述 PCR 目的片段为探针, 用  $\alpha$ -<sup>32</sup>P-dATP (DuPont 公司) 对其进行随机引物标记, 条件为 37°C 1 小时, 具体操作见 MegaprimeDNA 标记系统说明书(Amersham)。

## 3. cDNA 文库扩增及印迹标记 (筛选文库)

将人肾脏  $\lambda$  gt10cDNA 文库进行扩增, 克隆数达 50 万个, 然后将扩增好的 cDNA 文库印迹到 Hybond TM-N+尼龙膜上 (Amersham), 再将标记好的探针变性后与印迹膜杂交, 洗膜, 放入带增感屏的片夹, 与 FUJI MEDIA I X 光胶片于 -80°C 下进行放射自显影, 72 小时后冲片。

## 4. 挑取克隆及初筛克隆的复筛

通过上述杂交筛选获得 18 个初筛阳性克隆, 用上述相同的探针杂交和筛选过程对这 18 个阳性克隆进行复筛, 最终得到 11 个阳性单克隆。

## 5. 单克隆的鉴定和测序

以上述步骤 4 中得到的单克隆噬菌体为模板, 用上述步骤 1 的两个正反引物分别与  $\lambda$  gt10 左右臂上的引物 EF 及 ER (EF: 5' -



AGCAGCCAGTCAACACTTACG-3' ; ER : 5' -  
GAGTTTGCATATCGCCTCCATC-3') 进行搭配扩增, 然后进行琼脂糖凝胶电泳, 以判断每个克隆从探针出发向 5' 或 3' 步移(延伸)的长度, 从中选出向 5' 延伸最长和向 3' 延伸最长的克隆, 前者的插入片段约为 2.0kb, 后者的插入片段约为 1.0kb。将这两个克隆 EF、ER 扩增产物与 pGEM-T<sup>®</sup>载体(Promega)连接, 转化大肠杆菌 JM109, 用 QIAprep Plasmid 试剂盒(QIAGEN)提取质粒, 用双链嵌套式缺失试剂盒(Pharmacia)对插入片段进行定向系列缺失, 然后用 PCR 对缺失子进行快速鉴定及排序。用 SequiTherm EXCEL<sup>™</sup>DNA 测序试剂盒(Epicentre Technologies)对依次截短的缺失子进行测序, 最后用电脑软件拼接顺序, 获得全长 cDNA 序列, 共 2170bp, 详细序列见 SEQ ID NO: 1, 其中开放读框位于 151-1785 位核苷酸。

根据得到的 cDNA 序列推导出 HUMRH 的氨基酸序列, 共 544 个氨基酸残基, 其氨基酸序列详见 SEQ ID NO: 2。

## 实施例 2 HUMRH 的表达谱分析

多种组织 Northern(MNT<sup>™</sup>)印迹膜(16 种组织)购自 Clontech 公司, 以上实施例 1 步骤中的 2.0kb 克隆片段为探针, 探针的标记方法同实施例 1 步骤 2, Northern 杂交按用户手册操作。

16 种组织的 Northern 杂交结果显示 HUMRH 基因为广谱表达基因, 在前列腺高度表达, 在睾丸、卵巢、脾、小肠、结肠、外周血白细胞、心、脑、胎盘、骨骼肌及肾组织中也有表达, 但表达量稍

有差异。

### 实施例 3 HUMRH 在大肠杆菌中的表达

在该实施例中, 将以人肾脏  $\lambda$  gt10cDNA 为模板, 编码 HUMRH 的 cDNA 序列用对应于该 DNA 序列的 5' 和 3' 端的 PCR 寡核苷酸引物进行扩增, 获得 HUMRH cDNA 作为插入片段。

PCR 反应中使用的 5' 寡核苷酸引物序列为:

5' - CACAGGATCCATGGAGTTCAAACGCGGCC-3'

该引物含有 BamHI 限制性内切酶的酶切位点, 在该酶切位点之后是由起始密码子开始的 HUMRH 编码序列的 19 个核苷酸;

3' 端引物序列为:

5' - CCAAAAGCTTTCACACTGGTGACTGGAGC -3'

该引物含有 HindIII 限制性内切酶的酶切位点、翻译终止子和 HUMRH 的部分编码序列。

引物上的限制性内切酶的酶切位点对应于细菌表达载体 pQE-9 (Qiagen Inc., Chatsworth, CA) 上的限制性内切酶酶切位点, 该质粒载体编码抗生素抗性 (Amp<sup>r</sup>)、一个细菌复制起点 (ori)、一个 IPTG-可调启动子/操纵子 (P/O)、一个核糖体结合位点 (RBS)、一个 6-组氨酸标记物 (6-His) 以及限制性内切酶克隆位点。

用 BamHI、HindIII 消化 pQE-9 载体以及插入片段, 随后将插入

片段连接到 pQE-9 载体并保持开放读框在细菌 RBS 起始。随后用连接混合物转化购自 Qiagen, 商品名为 M15/rep4 的 E.coli 菌株, M15/rep4 含有多拷贝的质粒 pREP4, 其表达 lacI 阻遏物并携带卡那霉素抗性 (Kan<sup>r</sup>)。在含有 Amp 和 Kan 的 LB 培养皿上筛选转化子, 抽提质粒, 并测序验证 nek4 的 cDNA 片段已正确插入了载体。

在补加 Amp (100  $\mu$ g/ml) 和 Kan (25  $\mu$ g/ml) 的 LB 液体培养基中过夜培养 (O/N) 含所需构建物的阳性转化子克隆。过夜 (O/N) 培养物以 1: 100-1: 250 的稀释率稀释, 然后接种到大体积培养基中, 培养细胞至 600 光密度 (OD<sub>600</sub>) 为 0.4-0.6 时, 加入 IPTG (“异丙基硫代- $\beta$ -D-半乳糖苷”) 至终浓度为 1mM。通过使 lacI 阻遏物失活, IPTG 诱导启动 P/O 导致基因表达水平提高。继续培养细胞 3-4 小时, 随后离心 (6000  $\times$  g, 20 分钟)。超声裂解包涵体, 收集细胞并将细胞沉淀溶于 6M 的盐酸胍中。澄清后, 通过在能使含 6-His 标记物蛋白紧密结合的条件下, 用镍-螯合柱层析从溶液中纯化溶解的 HUMRH。用 6M 盐酸胍 (PH5.0) 从柱中洗脱 HUMRH。可用几种方法从盐酸胍中变性沉淀蛋白。或者, 使用透析步骤除去盐酸胍, 或者从镍-螯合柱中分离出纯化蛋白。纯化后的蛋白质被结合到第二个柱中, 该柱中具有递减的线性盐酸胍梯度。在结合到该柱时蛋白质变性, 随后用盐酸胍 (PH5.0) 洗脱。最后, 将可溶的蛋白质用 PBS 进行透析, 然后将蛋白质保存在终浓度为 10% (w/v) 甘油的贮存液中。

用 12% 的 SDS-PAGE 胶进行电泳, 鉴定表达蛋白的分子量大小约为 61KDa。

此外，用常规方法对达蛋白的 N 端和 C 端各 10 个氨基酸长度的氨基酸进行测序。

#### 实施例 4 HUMRH 在真核细胞（CHO 细胞株）中的表达

在该实施例中，将以人肾脏  $\lambda$  gt10cDNA 为模板，编码 HUMRH 的 cDNA 序列用对应于该 DNA 序列的 5' 和 3' 端的 PCR 寡核苷酸引物进行扩增，获得 HUMRH cDNA 作为插入片段。

PCR 反应中使用的 5' 寡核苷酸引物序列为：

5' -CACAAAGCTTATGGAGTTCAAACGCGGCC -3'，

该引物含有 HindIII 限制性内切酶的酶切位点，在该酶切位点之后是由起始密码子开始的 HUMRH 编码序列的 19 个核苷酸：

3' 端引物序列为：

5' -CCAAGGATCCTCACACTGGTGACTGGAGC-3'

该引物含有 BamHI 限制性内切酶的酶切位点、一个翻译终止子和 HUMRH 的部分编码序列。

引物上的限制性内切酶的酶切位点对应于 CHO 细胞表达载体 pcDNA3 上的限制性内切酶酶切位点，该质粒载体编码抗生素抗性 (Amp<sup>r</sup> 和 Neo<sup>r</sup>)、一个噬菌体复制起点 (f1 ori)、一个病毒复制起点 (SV40 ori)、一个 T7 启动子、一个病毒启动子(P-CMV)、一个 Sp6 启动子、一个 SV40 启动子、一个 SV40 加尾信号和相应的 polyA 顺序、一个 BGH 加尾信号和相应的 polyA 顺序。

用 HindIII、BamHI 消化 pcDNA3 载体以及插入片段，随后将插入片段连接到 pcDNA3 载体。随后用连接混合物转化 E.coli DH5  $\alpha$  菌株。在含有 Amp 的 LB 培养皿上筛选转化子，在补加 Amp(100  $\mu$ g/ml) 的 LB 液体培养基中过夜培养 (O/N) 含所需构建物的克隆。抽提质粒，并测序验证 HUMRH 的 cDNA 片段已正确插入了载体。

质粒转染 CHO 细胞是采用脂转染法，用 Lipofectin 试剂盒 (GiBco Life) 进行的。转染 48 小时后，经 2-3 周的持续 G418 加压筛选，收集细胞及细胞上清测定表达蛋白酶活力。去 G418，连续传代培养；对混合克隆细胞极限稀释，选择具有较高蛋白活性的细胞亚克隆。按常规方法大量培养上述阳性亚克隆。48 小时后，开始收集细胞及上清，用超声裂解方法破碎细胞。以含 0.05% Triton 的 50mM Tris  $\cdot$  HCl (PH7.6) 溶液为平衡液及洗脱液，用经预平衡的 Superdex G-75 柱收集上述蛋白的活性峰。再用 50mM Tris  $\cdot$  HCl (PH8.0) 平衡的 DEAE-Sepharose 柱，以含 0-1M NaCl 的 50mM Tris  $\cdot$  HCl (PH8.0) 溶液为洗脱液进行梯度洗脱，收集上述蛋白的活性峰。然后以 PBS (PH7.4) 为透析液对表达蛋白溶液进行透析。最后冻干保存。

用 12% 的 SDS-PAGE 胶进行电泳，鉴定表达蛋白的分子量大小为 61KDa。

此外，用常规方法对达蛋白的 N 端和 C 端各 10 个氨基酸长度的氨基酸进行测序。

根据上文教导，本发明可有各种改进和变动，因此，在所附权利要求范围内，本发明可以与具体所述不同的方式实施。

序列表

(1) 一般信息

- (i) 申请人: 复旦大学
- (ii) 发明名称: 人 Ras 相关 GTP 结合蛋白激酶
- (iii) 序列数: 2
- (iv) 联系地址:
  - (A) 收信人: 永新专利商标代理有限公司
  - (B) 街道: 金融大街 27 号
  - (C) 城市: 北京市
  - (D) 国家: 中国
  - (E) 邮政编码: 100032
- (vi) 本申请资料:
  - (A) 申请号:
  - (B) 申请日:
  - (C) 分类号:
- (viii) 律师/代理人信息:
  - (A) 姓名: 林晓红
  - (B) 注册号: 72002027
  - (C) 卷号: I98600CB
- (ix) 电讯信息:
  - (A) 电话: 8610-66211834
  - (B) 传真: 8610-66211845

(2) SEQ ID NO: 1 的信息:

(i) 序列特征:

(A) 长度: 2170bp

(B) 类型: 核酸

(C) 链性: 单链

(D) 拓扑结构: 线性

(iii) 分子型: cDNA

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 1

```

1 ACTGGCGGAC GAGCGTCGAG AGAAGAAGCC GAGGAGAGGA GGCTAAGCGA GCGCCCGGGG
61 ACACATGAAG CAGGCAAAGT CGCAGGGCCG CCAGCATGTT CTCCCGAAAC CACCGGAGCC
121 GGGTCACCGT GGCCAGGGTT CGCGTGAG ATGGAGTTCA AACGCGGCCG CTTCGGACTC
181 AGCCTCTTCA GCGACCTGCC CGAGGACACG GAGTTGCAGA GGAAGCTAGA CCATGAGATC
241 CGGATGAGGG AAGGGCCTTG TAAGCTGCTG GCAOCTTGCT OCCAAGCGAG ACAAGCTCTG
301 GAGGCCACCA AGAGCCTGCT AGTGTGCAAC AGCGCATCC TCAGCTACAT GGGCGAGCTG
361 CAGGGCGCA AGGAGGCGCA GGTGCTGGG AAGACAAACC GGCGGCCTTC TGACAGTGGC
421 CGCGCGCTG AGCGCTCCC CTGCCGCGG CGGTCTGCA TCTCTGACCT CCGGATTCCA
481 CTCATGTGGA AGGACACAGA ATATTCAAG AACAAAGGTG ACTTGCAOCG CTGGGCTGTG
541 TTCCTGCTGC TGCAGCTGGG GGAACACATC CAGGACACAG AGATGATCCT AGTGGACAGG
601 ACCCTCACAG ACATCTCCTT TCAGAGCAAT GTGCTCTTCG CTGAGGCGGG GCCAGACTTT
661 GAACTGCGGT TAGAGCTGTA TGGGGCTGT GTGAAGAAG AGGGGGCCT GACTGGCGGC
721 CCCAAGAGGC TTGCCACCAA ACTCAGCAGC TCCCTGGGCC GCTCCTCAGG GAGGCGTGTG
781 CGGGCATCGC TGGACAGTGC TGGGGTTCA GGGAGCAGTC CCATCTTGCT CCCACCCCA
841 GTTGTGGTG GTCCTCGTTA CCACCTCTG GCTCACACCA CACTACCCCT GGCAGCAGTG
901 CAAGATGGAT TCCTCACACA TGACCTCACC CTTGCCAGTC ATGAGGAGAA CCCTGCCTGG
961 CTGCCCCCTT ATGGTAGCGT GTGTTGCCGT CTGGCAGCTC AGCCTCTCTG CATGACTCAG
1021 CCCACTGCAA GTGCTACCCT CAGGGTGAG CAAGCTGGG AGATGCAGAA CTGGGCACAA
1081 GTGCATGGAG TTCTGAAAGG CACAAACCTC TTCTGTTACC GGCAACCTGA GGATGCAGAC
1141 ACTGGGGAAG AGCGCTGTT TACTATTGCT GTCAACAAGG AGACTCGAGT CCGGGCAGGG
1201 GAGCTGGACC AGGCTCTAGG ACGGCCCTC ACCCTAAGCA TCAGTAACCA GTATGGGGAT
1261 GATGAGGTGA CACACACCCT TCAGACAGAA AGTGGGAAG CACTGCAGAG CTGGATGGAG
1321 GCTCTGTGGC AGCTTTTCTT TGACATGAGC CAATGGAAGC AGTGCTGTGA TGAATCATG
1381 AAAATTGAAA CTCTGTCTCC CGGAAACCA CCCCAGCAC TGGCAAAGCA GGGGTCTTG
1441 TACCATGAGA TGGCTATTGA GCCGTGGAT GACATCGCAG CGGTGACAGA CATCCTGACC

```

1501 CAGCGGGAGG GCGCAAGGCT GGAGACACCC CCACCCCTGGC TGGCAATGTT TACAGACCAG  
 1561 CCTGCCCTGC CTAACCCCTG CTGCCTGGC TCAGTGGCCC CAGCCCAGA CTGGACCCAC  
 1621 CCCCTGCCCT GGGGAGACC CGAACCTTT TCCCTGGATG CTGTCCCCC AGACCACTCC  
 1681 CCTAGGGCTC GCTGGGTTGC CCCCCTCCA CCTCAGOGAT CCCACGGAC CAGAGGCCTC  
 1741 TGCAGCAAAG GCCAACCTCG CACTTGGCTC CAGTCAACCAG TGTGAGAGAG AAAGGTGCTG  
 1801 GCATAGGATC TGCCAGAAAG AGAAAATGAC CCATGCCAG TTGGGCTCTG GATACGGCGC  
 1861 TGTCTATAGC AAGTTTGCCA GTCTGGCTC CTGTTCTCT GCTGGACCTG GGTAGGCTG  
 1921 CAGGGGTGGG CAGAAGCCCC TCTTAAATTG TGGTTGCCAT GGTACCGAGG GACTCATTCC  
 1981 TGGGGCTCGC TGGGACCTCC CTAACCCCTT CCTGGAAGAA AACTGGAACC AACTCTGCCC  
 2041 TACCTCCCTG CACTAACCAAG CTTTGAGGAT GGCACCTGAAG AACCTTGGA GCAAACATAC  
 2101 CTCCTTGTG ACTCCACAT CAACCATTAA AGTTATTAA CAGCAGCCTT CACCTTGGCT  
 2161 CCGAGGAAA

(2) SEQ ID NO: 2 的信息:

(i) 序列特征:

(A) 长度: 544 个氨基酸

(B) 类型: 氨基酸

(C) 拓扑结构: 线性

(iii) 分子型: 多肽

(xi) 序列描述: SEQ ID NO: 2

1 MEFKRGRFRLSLFSDLPEDTELQRKLDHEIRMREGPCXLLAPCSQARQALEATKSLLVCN  
 61 SRILSYMGELQRRKEAQLGKTNRRPSDSGPPERSPCRGVRCISDLRIPLMWKDTEYFK  
 121 NKGD LHRWAVFLLLQLGEHIQDTEMILVDRTLTDISFQSNVLF AEAGPDFELRLELYGAC  
 181 VEEEGALTGGPKRLATKLSSSLGRSSGRRVRASLDSAGSGSSPILLPTPVVGGPRYHLL  
 241 AHTTLTAAVQDGF LTHDLTASHEENPAWLPYGSVCCRLAAQPLCMTQPTASGTLRVQ  
 301 QAGEMQNWAVQVHGV LKGTNLFCYRQPEDADTGEEPLFTIAVNKETRVVRAGELDQALGRPF  
 361 TLSISNQYGDDEVTH TLQTESREALQSWMEALWQLFFDMSQWKQCDEIMKIETPAPRKP  
 421 PQALAKQGS LYHEMAIEPLDDIAAVTDILTQREGARLET PPPWLAMFTDQPALPNPCSPA  
 481 SVAPAPDWTHPLPWGRPRTFSLDAVPPDHS PRARSVAPLPPQSPRTRGLCSKGQPRTWL  
 541 QSPV



**Human transcription termination factor binding protein 54 as one new kind of polypeptide and polynucleotides encoding this polypeptide**

Patent Number: CN1297918  
Publication date: 2001-06-06  
Inventor(s): MAO YUMIN (CN); GIN YILONG (CN); XIE YI (CN)  
Applicant(s): SHANGHAI BORONG GENE DEV CO LT (CN)  
Requested Patent: CN1297918  
Application Number: CN19990124126 19991126  
Priority Number (s): CN19990124126 19991126  
IPC Classification: C07K14/435; C07K16/18; C07H21/00; C12N15/10; C12N15/12; C12N15/63; C12N15/64; C12P21/00; G01N33/68  
EC Classification:  
Equivalents:

---

**Abstract**

---

The present invention discloses a novel polypeptide, human transcription termination factor binding protein 54, polynucleotides encoding this polypeptide and DNA recombination process to produce the polypeptide. The present invention also discloses the method of applying the polypeptide in treating various diseases, such as malignant tumor, nosohemia, HIV infection, immunological diseases and inflammations. The present invention also discloses the antagonist resisting the polypeptide and its treatment effect. The present invention also discloses the application of the polynucleotides encoding this polypeptide.

---

Data supplied from the esp@cenet database - I2